

**New pyridoindolylmethyl-phenylacetic acid amide derivatives useful in lowering serum cholesterol levels in treatment of e.g. atherosclerosis, coronary heart disease, apoplexy and thromboses****Publication number:** DE19951022**Publication date:** 2001-04-26**Inventor:** MUELLER ULRICH (DE); PLOSCHKE HANS-JUERGEN (DE); GRUETZMANN RUDI (DE); KANHAI WOLFGANG (DE)**Applicant:** BAYER AG (DE)**Classification:****- International:** A61P9/10; C07D471/04; A61P9/00; C07D471/00;  
(IPC1-7): C07D471/04; A61P9/10; C07D209/00;  
C07D471/04; C07D221/00**- European:** C07D471/04**Application number:** DE19991051022 19991022**Priority number(s):** DE19991051022 19991022[Report a data error here](#)**Abstract of DE19951022**

Pyrido(2,3-b)indol-9-ylmethyl-phenylacetic acid amide derivatives (I) are new. The pyrido(2,3-b)indol-9-ylmethyl-phenylacetic acid amide derivatives of formula (I) and their base and addition salts. R<1>-R<4> = H, CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, CH<sub>2</sub>OH, OH, COOH, or CHO; D = alkyl or cycloalkyl (each with 3-8C and each optionally mono- or disubstituted with OH or monosubstituted with oxo); R<5> = phenyl optionally mono- or disubstituted with NO<sub>2</sub>, halo, OH or alkyl, hydroxylalkyl, alkoxy and/or alkoxy carbonyl (each with up to 3C); R<6> = H, COOH, or alkoxy carbonyl alkyl or hydroxylalkyl (each with up to 3C). An Independent claim is also included for the preparation of compounds (I).

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide



(19) BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

(12) **Offenlegungsschrift**  
(10) **DE 199 51 022 A 1**

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>:  
**C 07 D 471/04**  
A 61 P 9/10  
// (C07D 471/04,  
209:00)C07D 221:00

(21) Aktenzeichen: 199 51 022.9  
(22) Anmeldetag: 22. 10. 1999  
(43) Offenlegungstag: 26. 4. 2001

**DE 199 51 022 A 1**

(71) Anmelder:  
Bayer AG, 51373 Leverkusen, DE

(72) Erfinder:  
Müller, Ulrich, Dr., 42111 Wuppertal, DE; Ploschke,  
Hans-Jürgen, Dipl.-Ing., 42113 Wuppertal, DE;  
Grützmann, Rudi, Dr., 42657 Solingen, DE; Kanhai,  
Wolfgang, Dr., 42327 Wuppertal, DE

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

- (54) Carbolinderivate  
(57) Die vorliegende Erfindung betrifft Carbolinderivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als Arzneimittel, insbesondere als antiatherosklerotische Arzneimittel.

**DE 199 51 022 A 1**

## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft Carbolinderivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als Arzneimittel, insbesondere als antiatherosklerotische Arzneimittel.

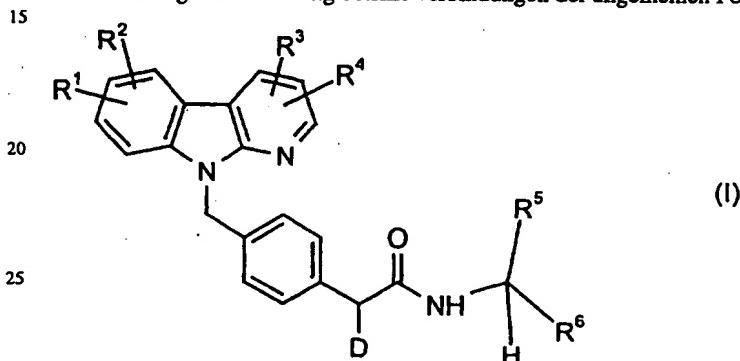
5 Es ist bekannt, dass erhöhte Blutspiegel von Triglyzeriden (Hypertriglyceridämie) und Cholesterin (Hypercholesterinämie) mit der Genese von atherosklerotischen Gefäßwand-Veränderungen und koronaren Herzkrankheiten assoziiert sind.

Ein deutlich erhöhtes Risiko für die Entwicklung koronarer Herzerkrankungen liegt darüber hinaus vor, wenn diese beiden Risikofaktoren kombiniert auftreten, was wiederum mit einer Überproduktion an Apolipoprotein B-100 einhergeht.

10 Es besteht daher nach wie vor ein starkes Bedürfnis, wirksame Arzneimittel zur Bekämpfung der Atherosklerose sowie koronarer Herzkrankheiten zur Verfügung zu stellen.

Aus EP 705 831 sind bereits Carbolinderivate bekannt, welche die Apo B-100-assoziierten Lipoproteine senken. Die dort beschriebenen Verbindungen zeichnen sich jedoch durch einen unpolaren Rest D aus.

Die vorliegende Erfindung betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



- 30 worin  
 $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff, Alkyl mit bis zu 2 Kohlenstoffatomen, Hydroxymethyl, Hydroxyl, Carboxyl oder Formyl stehen,  
 $D$  für Alkyl mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen steht, die durch ein oder zwei Hydroxygruppen oder eine Oxogruppe substituiert sind,  
35  $R^5$  für Phenyl steht, das bis zu 2-fach gleich oder verschieden durch Nitro, Halogen, Hydroxy, Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen, wobei Alkyl gegebenenfalls durch Hydroxyl substituiert sein kann, Alkoxy mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen und/oder Alkoxy carbonyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen substituiert sein kann und  
 $R^6$  für Wasserstoff, Carboxyl, Alkoxy carbonyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen oder für Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen steht, wobei das Alkyl gegebenenfalls durch Hydroxyl substituiert sein kann  
40 und deren Salze.

Die erfindungsgemäßen Carbolinderivate können auch in Form ihrer Salze vorliegen. Im allgemeinen seien hier Salze mit organischen oder anorganischen Basen oder Säuren genannt.

- 45 Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden physiologisch unbedenkliche Salze bevorzugt. Physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen können Salze der erfindungsgemäßen Stoffe mit Mineralsäuren, Carbonsäuren oder Sulfonsäuren sein. Besonders bevorzugt sind z. B. Salze mit Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Benzolsulfinsäure, Naphthalindisulfinsäure, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Maleinsäure oder Benzoësäure.

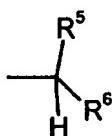
- 50 Physiologisch unbedenkliche Salze können ebenso Metall- oder Ammoniumsalze der erfindungsgemäßen Verbindungen sein, welche eine freie Carboxylgruppe besitzen, sein. Besonders bevorzugt sind z. B. Natrium-, Kalium-, Magnesium- oder Calciumsalze, sowie Ammoniumsalze, die abgeleitet sind von Ammoniak, oder organischen Aminen, wie beispielsweise Ethylamin, Di- bzw. Triethylamin, Di- bzw. Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Arginin, Lysin, Etylendiamin oder 2-Phenylethylamin.

- 55 Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in stereoisomeren Formen, die sich entweder wie Bild und Spiegelbild (Enantiomere), oder die sich nicht wie Bild und Spiegelbild (Diastereomere) verhalten, existieren. Die Erfindung betrifft sowohl die Enantiomeren oder Diastereomeren oder deren jeweiligen Mischungen. Diese Mischungen der Enantiomeren und Diastereomeren lassen sich in bekannter Weise in die stereoisomer einheitlichen Bestandteile trennen.

Bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I), worin

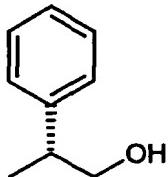
- $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  gleich oder verschieden sind und für Methyl, Hydroxy, Hydroxymethyl, Formyl oder Carboxyl stehen,  
60  $D$  für Cycloalkyl mit 5 bis 7 Kohlenstoffatomen steht, das durch ein oder zwei Hydroxygruppen oder eine Oxogruppe substituiert ist  
 $R^5$  für Phenyl steht, das gegebenenfalls einfach durch Nitro, Halogen, Hydroxy, Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen, wobei Alkyl gegebenenfalls durch Hydroxyl substituiert sein kann, Alkoxy mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen oder Alkoxy carbonyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen substituiert sein können  
65  $R^6$  für Wasserstoff oder für Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen steht, wobei das Alkyl gegebenenfalls durch Hydroxyl substituiert sein kann.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen in denen die Gruppierung



5

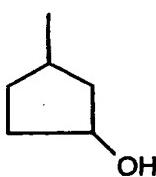
für einen (S)-2'-Hydroxy-1'-phenylethylrest der Formel



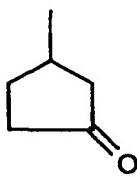
10

steht.

Der Rest D steht beispielsweise gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform für eine Cyclopentylgruppe, die durch eine oder zwei Hydroxygruppen oder eine Oxogruppe substituiert ist. Beispiele dafür sind folgende Reste:

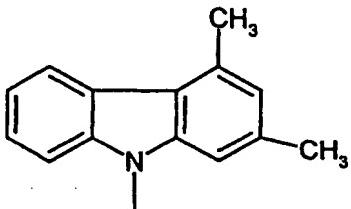


20



25

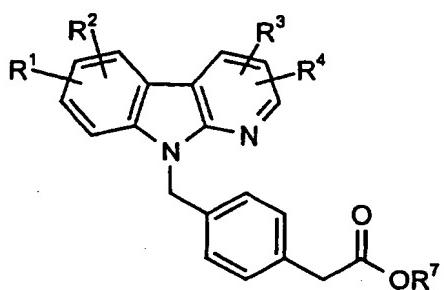
Als Beispiel für einen besonders bevorzugten Carbolinrest sei der folgende Rest aufgeführt:



30

35

Erfnungsgemäße Verbindungen, die diesen Rest enthalten, stellen eine besonders bevorzugte Ausführungsform dar.  
Außerdem wurde ein Verfahren zur Herstellung der erfungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I) ge-  
funden, dadurch gekennzeichnet, dass man Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



(II)

40

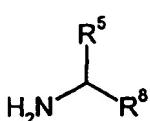
45

50

worin,  
R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> die oben angegebene Bedeutung haben und  
R<sup>7</sup> für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, bevorzugt tert.-Butyl, steht,  
zur Einführung des Substituenten D in Gegenwart einer Base mit Elektrophilen E, wobei E ein elektrophiles Synthese-  
Äquivalent für D bezeichnet, umsetzt, je nach der Natur von E im Fall der Carbonylverbindungen gegebenenfalls die Hy-  
droxygruppe oxidiert bzw. im Fall der Hydroxylverbindungen die Carbonylgruppe reduziert,  
die erhaltenen Ester nach üblichen Methoden zu den Carbonsäuren hydrolysiert und die Carbonsäuren mit Verbindungen  
der allgemeinen Formel (III)

55

60



65

worin  
R<sup>5</sup> die oben angegebene Bedeutung hat und  
R<sup>8</sup> die oben für R<sup>6</sup> angegebene Bedeutung, mit Ausnahme von Carboxy, hat,

DE 199 51 022 A 1

in einem inerten Lösungsmittel und in Anwesenheit von Basen und/oder Hilfsstoffen amidiert und gegebenenfalls funktionelle Gruppen durch Hydrolyse, Veresterung oder Reduktion variiert.

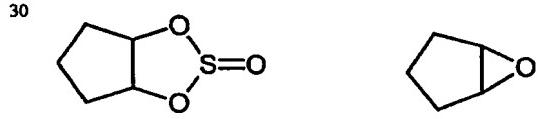
Die Umsetzung von Verbindungen der Formel (II) mit dem Elektrophil E in Gegenwart einer Base erfolgt bei Temperaturen von -100°C bis 0°C. Als Lösemittel eignen sich hierbei inerte organische Lösemittel, die sich unter den Reaktionsbedingungen nicht verändern. Hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glycoldimethylether oder Diethylenglycoldimethylether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösemittel wie Nitromethan, Ethylacetat, Aceton, Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid, Acetonitril oder Hexamethylphosphorsäuretriamid. Ebenso ist es möglich, Gemische der Lösemittel einzusetzen. Besonders bevorzugt sind cyclische Ether, insbesondere Tetrahydrofuran (THF).

Basen für die Umsetzung der Verbindungen der Formel (II) mit dem Elektrophil E sind dem Fachmann bekannt. So eignen sich beispielsweise Alkalihydride wie Natriumhydrid, Kaliumhydrid; Erdalkalihydride wie Calciumhydrid; Alkaliamide wie Natriumamid, Lithiumdiisopropylamid; Alkalialkoholate, wie Natriummethanolat, Natriummethanolat, Kaliummethanolat, Kaliummethanolat oder Kaliumtert.-butylat; lithiumorganische Verbindungen wie Butyllithium oder Phenyllithium oder das Lithium- bzw. das Natriumsalz von Hexamethyldisilazan. Besonders bevorzugt ist Lithiumdiisopropylamid (LDA).

Als Elektrophil E können dem Fachmann geläufige Derivate eingesetzt werden, die sich als elektrophiles Synthesäquivalent für die Einführung des Substituenten D eignen. Hierzu gehören unter anderem Schwefligsäureester, Epoxide,  $\alpha$ -Halogenketone, insbesondere  $\alpha$ -Chlorketone, Sulfonate, wie z. B.  $\alpha$ -Tosylketone oder  $\alpha$ -Mesylketone oder Enone. Beispielausführungen seien hier Reagenzien zur direkten Einführung eines Ketocyclopentylrestes aufgeführt:



Zur direkten Einführung eines Hydroxycyclopropylrestes eignen sich beispielsweise:



Aus den Substanzen, in denen der Rest D eine Ketogruppe enthält, können mittels üblicher Reduktionsmethoden die entsprechenden Hydroxyverbindungen hergestellt werden. Als Reduktionsmittel eignen sich insbesondere komplexe Hydride von denen beispielsweise Natriumborhydrid besonders bevorzugt ist. Die Umsetzung erfolgt üblicherweise in den oben genannten inerten Lösungsmitteln bei Temperaturen von  $-100^{\circ}\text{C}$  bis  $+50^{\circ}\text{C}$ , bevorzugt  $-80^{\circ}\text{C}$  bis  $+40^{\circ}\text{C}$ .

Umgekehrt lassen sich aus den Substanzen, in denen der Rest D eine Hydroxygruppe enthält, mittels üblicher Oxidationsmethoden auch die entsprechenden Ketoverbindungen herstellen. Geeignete Oxidationsmittel sind dem Fachmann bekannt; so eignen sich unter anderem Chrom(VI)reagentien wie z. B.  $\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$  (Jones-Reagenz),  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}_2\text{SO}_4$ , Pyridiniumchlorochromat (PCC).

Methoden zur Esterhydrolyse sind dem Fachmann geläufig. Die Hydrolyse kann sauer oder basisch erfolgen. Bevorzugt wird hier die saure Hydrolyse beispielsweise mit Salzsäure bei Temperaturen von 0°C bis +100°C.

Die Ester der Formel (II) können auf üblichem Weg durch Veresterung der entsprechenden Carbonsäuren, d. h. Verbindungen der Formel (II) in denen  $R^1$  für Wasserstoff steht, hergestellt werden. Die entsprechenden Carbonsäurevorstufen und ihre Herstellung sind in EP 705 831 beschrieben.

Die Amidierung erfolgt in Analogie zu den in EP 705 831 angegebenen Bedingungen:  
50 Als Lösemittel für die Amidierung eignen sich hierbei inerte organische Lösemittel, die sich unter den Reaktionsbedingungen nicht verändern. Hierzu gehören Ether, wie Diethylether oder Tetrahydrofuran, Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, 1,2-Dichlorethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethen oder Trichlorethylen, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylool, Toluol, Hexan, Cyclohexan, oder Erdölfractionen, Nitromethan, Dimethylformamid, Aceton, Acetonitril oder Hexamethylphosphorsäuretriamid. Ebenso ist es möglich, Gemische der Lösemittel einzusetzen. Besonders bevorzugt sind Dichlormethan, Tetrahydrofuran, Aceton oder Dimethylformamid.  
55

Als Basen können bei der Amidierung im allgemeinen anorganische oder organische Basen eingesetzt werden. Hierzu gehören vorzugsweise Alkalihydroxide wie zum Beispiel Natriumhydroxid oder Kaliumhydroxid, Erdalkalihydroxide wie zum Beispiel Bariumhydroxid, Alkalicarbonate wie Natriumcarbonat oder Kaliumcarbonat, Erdalkalicarbonate wie Calciumcarbonat, oder Alkali- oder Erdalkalikohlolate wie Natrium- oder Kaliummethanolat, Natrium- oder Kaliumethanolat oder Kalium-tert.-butylat, oder organische Amine (Trialkyl( $C_1-C_8$ )amine) wie Triethylamin, oder Heterocyclen wie 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO), 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), Pyridin, Diaminopyridin, Methylpiperidin oder Morphinol. Es ist auch möglich, als Basen Alkalimetalle wie Natrium und deren Hydride wie Natriumhydrid einzusetzen. Bevorzugt sind Natrium- und Kaliumcarbonat und Triethylamin.

65 Die Base wird in einer Menge von 1 mol bis 5 mol, bevorzugt von 1 mol bis 3 mol, bezogen auf 1 mol der Verbindung der allgemeinen Formel (II), eingesetzt.

Die Reaktion wird im allgemeinen in einem Temperaturbereich von 0°C bis 150°C, bevorzugt von +20°C bis +110°C, durchgeführt.

# DE 199 51 022 A 1

Die Umsetzung kann bei normalen, erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck durchgeführt werden (z. B. 0,5 bis 5 bar). Im allgemeinen arbeitet man bei Normalsdruck.

Die Amidierung kann gegebenenfalls auch über die aktivierte Stufe der Säurehalogenide, die aus den entsprechenden Säuren durch Umsetzung mit Thionylchlorid, Phosphortrichlorid, Phosphorpentachlorid, Phosphortribromid oder Oxalylchlorid hergestellt werden können, verlaufen.

Die oben aufgeführten Basen können gegebenenfalls auch als säurebindende Hilfsmittel für die Amidierung eingesetzt werden.

Als Hilfsmittel eignen sich ebenso Dehydratisierungsreagenzien. Dazu gehören beispielsweise Carbodiimide wie Diisopropylcarbodiimid, Dicyclohexylcarbodiimid oder N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid oder Carbonylverbindungen wie Carbonyldiimidazol oder 1,2-Oxazoliumverbindungen wie 2-Ethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3-sulfonat oder Propanphosphorsäureanhydrid oder Isobutylchloroformat oder Benzotriazolyloxy-tris-(dimethylamino)phosphonium-hexylfluorophosphat oder Phosphonsäurediphenyl-esteramid oder Methansulfonsäurechlorid, gegebenenfalls in Anwesenheit von Basen wie Triethylamin oder N-Ethylmorpholin oder N-Methylpiperidin oder Dicyclohexylcarbodiimid und N-Hydroxysuccinimid.

Die säurebindenden Mittel und Dehydratisierungsreagenzien werden im allgemeinen in einer Menge von 0,5 bis 3 mol, bevorzugt von 1 bis 1,5 mol, bezogen auf 1 mol der entsprechenden Carbonsäuren, eingesetzt.

Die Variation von funktionellen Gruppen wie beispielsweise Hydrolyse, Veresterung und Reduktion, sowie die Isomerentrennung und Salzbildung erfolgt nach üblichen Methoden.

Überraschenderweise zeigen die erfundengemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I) ein wertvolles pharmakologisches Wirkspektrum bei einer im Vergleich zu bekannten Verbindungen deutlich erhöhten Polarität.

Sie können als Wirkstoffe in Arzneimitteln zur Reduzierung von Veränderungen an Gefäßwänden Verwendung finden und zur Behandlung von koronaren Herzerkrankungen, Herzinsuffizienz, Störungen der Hirnleistung, ischämischen Gehirnerkrankungen, Apoplex, Durchblutungsstörungen, Mikrozirkulationsstörungen und Thrombosen.

Weiterhin spielt bei der Okklusion von Gefäßen die Proliferation glatter Muskelzellen eine ausschlaggebende Rolle. Die erfundengemäßen Verbindungen sind geeignet, diese Proliferation zu inhibieren und damit atherosklerotische Prozesse zu verhindern.

Die erfundengemäßen Verbindungen zeichnen sich durch eine Senkung der ApoB-100-assoziierten Lipoproteinen (VLDL und seiner Abbauprodukte, wie z. B. LDL), des ApoB-100, der Triglyceride und des Cholesterins aus. Damit besitzen sie wertvolle, im Vergleich zum Stand der Technik überlegene pharmakologische Eigenschaften.

Überraschenderweise besteht die Wirkung der erfundengemäßen Verbindungen zunächst in einer Verminderung oder vollständigen Inhibition der Bildung und/oder der Freisetzung von ApoB-100-assoziierten Lipoproteinen aus Leberzellen, was eine Senkung des VLDL-Plasmaspiegels zur Folge hat. Diese VLDL-Senkung muss mit einer Senkung der Plasmaspiegel von ApoB-100, LDL, Triglyceriden und von Cholesterin einhergehen; es werden also gleichzeitig mehrere der obengenannten Risikofaktoren gesenkt, die an Gefäßwandveränderungen beteiligt sind.

Die erfundengemäßen Verbindungen können daher zur Prävention und Behandlung von Atherosklerose, der Fett sucht, Pankreatitis und der Obstipation eingesetzt werden.

Die höhere Polarität führt in der Regel zu einer verbesserten Wasserlöslichkeit. Dies bietet z. B. Vorteile bei der Konzipierung und Herstellung gälenischer Formulierungen. Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass physiologische Prozesse fast immer in wäßrigen Systemen stattfinden, so dass auch hier in der Regel eine höhere Polarität Vorteile bietet, beispielsweise durch die bessere Lösbarkeit. Relative Polaritäten von Verbindungen können beispielsweise über die Retentionszeiten in der Flüssigchromatographie beschrieben werden.

## 1. Hemmung der Freisetzung ApoB-100-assozierter Lipoproteine

Der Test zum Nachweis der Hemmung der Freisetzung ApoB-100-assozierter Lipoproteine aus Leberzellen erfolgte in vitro mit kultivierten Leberzellen, bevorzugt mit Zellen der humanen Linie HepG2. Diese Zellen werden unter Standardbedingungen in Medium flfr die Kultur eukariontischer Zellen gezüchtet, bevorzugt in RPMI 1640 mit 10% fötalem Kälberserum. HepG2-Zellen synthetisieren und sezernieren in den Kulturüberstand ApoB-100-assoziierte Lipoproteinp artikel, die im Prinzip ähnlich aufgebaut sind wie die VLDL- bzw. LDL-Partikel, die im Plasma zu finden sind.

Diese Partikel können mit einem Immunoassay für humanes LDL nachgewiesen werden. Dieser Immunoassay erfolgt mit Antikörpern, die im Kaninchen gegen humanes LDL unter Standardbedingungen induziert worden waren. Die anti-LDL-Antikörper (Kan-anti-LDL-Ak) wurden an einem Immunosorbens mit humanem LDL affinitätschromatographisch gereinigt. Diese gereinigten Kan-anti-LDL-Ak werden an die Oberfläche von Plastik adsorbiert. Zweckmäßigerverweise erfolgt diese Adsorption an die Plastikoberfläche von Mikrotitierplatten mit 96 Vertiefungen, bevorzugt an MaxiSorp-Platten. Wenn im Überstand von Hep-G2-Zellen ApoB-100-assoziierte Partikel vorhanden sind, dann können diese an die insolubilisierten Kan-anti-LDL-Ak binden, und es entsteht ein Immunkomplex, der an die Plastikoberfläche gebunden ist. Nicht gebundene Proteine werden durch Waschen entfernt. Der sich an der Plastikoberfläche befindliche Immunkomplex wird mit monoklonalen Antikörpern nachgewiesen, die nach Standardbedingungen gegen humanes LDL induziert und gereinigt worden waren. Diese Antikörper wurden mit dem Enzym Peroxidase konjugiert. Peroxidase setzt das farblose Substrat TMB in Gegenwart von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in ein gefärbtes Produkt um. Nach Ansäuerung des Reaktionsgemisches mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird die spezifische Lichtadsorption bei 450 nm bestimmt, die ein Maß für die Menge von ApoB-100-assoziierten Partikeln ist, die von den HepG2-Zellen in den Kulturüberstand sezerniert worden waren.

Überraschenderweise hemmen die erfundengemäßen Verbindungen die Freisetzung der ApoB-100-assoziierten Partikel. Der IC<sub>50</sub>-Wert gibt an, bei welcher Substanzkonzentration die Lichtadsorption im Vergleich zur Kontrolle (Lösungsmittelkontrolle ohne Substanz) um 50% inhibiert ist.

Tabelle 1

Bsp.-Nr.	$IC_{50} [10^{-9} \text{ mol/l}]$
1a	140
1b	460
1c	460
1d	17
1e	160
2a	91
2b	270
2c	37
2d	270
2e	13
2f	270
2g	130
2h	46

## 2. Hemmung der intestinalen Triglyceridabsorption in vivo (Ratten)

Die Substanzen, die auf ihre triglyceridabsorptionshemmende Wirkung in vivo untersucht werden sollen, werden männlichen Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht zwischen 170 und 230 g oral verabreicht. Zu diesem Zweck werden die Tiere 18 Stunden vor der Substanzapplikation in Gruppen zu 6 Tieren eingeteilt und anschließend wird ihnen das Futter entzogen. Trinkwasser steht den Tieren ad libitum zur Verfügung. Die Tiere der Kontrollgruppen erhalten eine wässrige Traganth-Suspension bzw. eine Traganth-Suspension die Olivenöl enthält. Die Traganth-Olivenöl-Suspension wird mit dem Ultra-Turrax hergestellt. Die zu untersuchenden Substanzen werden in einer entsprechenden Traganth-Olivenöl-Suspension ebenfalls mit dem Ultra-Turrax, direkt vor der Substanzapplikation suspendiert.

Jeder Ratte wird vor der Schlundsondenapplikation zur Bestimmung des basalen Serumtriglyceridgehaltes Blut durch Punktion des retroorbitalen Venenplexus entnommen. Anschließend werden die Traganth-Suspension, die Traganth-Olivenöl-Suspensionen ohne Substanz (Kontrolltiere), bzw. die Substanzen, suspendiert in einer entsprechenden Traganth-Olivenöl-Suspension, den nüchternen Tieren mit einer Schlundsonde verabreicht. Die weiteren Blutentnahmen zur Bestimmung des postprandialen Serumtriglyceridanstiegs erfolgen in der Regel 1, 2 und 3 Stunden nach der Schlundsondenapplikation.

Die Blutproben werden zentrifugiert und nach Gewinnung des Serums die Triglyceride photometrisch mit einem EPOS-Analyser 5060 (Eppendorf Gerätbau, Netheler & Hinz GmbH, Hamburg) bestimmt. Die Bestimmung der Triglyceride erfolgt vollenzymatisch mit einem handelsüblichen UV-Test.

Der postprandiale Serumtriglyceridanstieg wird durch Subtraktion des Triglyceridvorwertes jeden Tieres von seinen korrespondierenden postprandialen Triglyceridkonzentrationen (1, 2 und 3 Stunden nach Applikation) ermittelt.

Die Differenzen (in mmol/l) zu jedem Zeitpunkt (1, 2 und 3 Stunden) werden in den Gruppen gemittelt, und die Mittelwerte des Serumtriglyceridanstiegs ( $\Delta TG$ ) der substanzbehandelten Tiere mit den Tieren verglichen, die nur die Traganth-Öl-Suspension erhielten.

Ebenso wird der Serumtriglyceridverlauf der Kontrolltiere, die nur Traganth erhielten, berechnet. Der Substanzeffekt zu jedem Zeitpunkt (1, 2 oder 3 Stunden) wird wie folgt ermittelt und in  $\Delta\%$  von der ölbefestigten Kontrolle angegeben.

$$\Delta\% \text{ Triglyceridanstieg} = \frac{\Delta TG_{\text{Substanz}} - \Delta TG_{\text{Traganthkontrolle}}}{\Delta TG_{\text{Ölbefestigung}} - \Delta TG_{\text{Traganthkontrolle}}} \times 100$$

Effekt von 10 mg Prüfsubstanz/kg KG p.o. auf den Triglyceridanstieg ( $\Delta\%$ ) 2 h nach einer Triglyceridbelastung im Serum nüchtern Ratten. Der Serumtriglyceridanstieg fettbefestigter Kontrolltiere bezogen auf den Serumtriglyceridspiegel von Traganth-Kontrolltieren entspricht 100%. n = 6 Tiere pro Gruppe.

# DE 199 51 022 A 1

Die statistische Auswertung erfolgt mit Student's t-Test nach vorheriger Überprüfung der Varianzen auf Homogenität. Substanzen, die zu einem Zeitpunkt den postprandialen Serumtriglyceridanstieg, verglichen mit dem der unbehandelten Kontrollgruppe, statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ) um mindestens 30% vermindern, werden als pharmakologisch wirksam angesehen.

5

## 3. Hemmung der VLDL-Sekretion in vivo (Ratte)

Die Wirkung der Testsubstanzen auf die VLDL-Sekretion wird ebenfalls an der Ratte untersucht. Dazu wird Ratten 500 mg/kg Körpergewicht (2,5 mg/kg) Triton WR-1339, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, intravenös in die Schwanzvene appliziert. Triton WR-1339 inhibiert die Lipoproteinlipase und führt somit durch Hemmung des VLDL-Katabolismus zu einem Anstieg des Triglycerid- und Cholesterinspiegels. Diese Anstiege können als Maß für die VLDL-Sekretionsrate herangezogen werden.

Den Tieren wird vor sowie eine und zwei Stunden nach Applikation des Detergents durch Punktation des retroorbitalen Venenplexus Blut entnommen. Das Blut wird zur Gerinnung 1 h bei Raumtemperatur inkubiert und das Serum durch Zentrifugation mit 10 000 g für 20 s gewonnen. Anschließend werden die Triglyceride mittels eines handelsüblichen gekoppelten Enzymtests (Sigma Diagnostics®, Nr. 339) bei einer Wellenlänge von 540 nm photometrisch bestimmt. Die Messung erfolgt mit Hilfe eines ebenfalls gekoppelten Enzymtests (Boehringer Mannheim, Nr. 1442350) bei einer Wellenlänge von 546 nm. Proben mit Triglycerid- bzw. Cholesterinkonzentrationen, die den Messbereich der Methoden überschreiten, werden mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Die Ermittlung der jeweiligen Serumkonzentrationen erfolgt anhand lösung verdünnt. Die Ermittlung der jeweiligen Serumkonzentrationen erfolgt anhand parallel gemessener Standardreihen. Testsubstanzen werden unmittelbar nach der Tritoninjektion oral, intravenös oder subcutan appliziert.

10

15

20

## 4. Bestimmung der Relativen Retentionszeiten der erfundungsgemäßen Verbindungen

25

Ca. 1 mg der jeweiligen Substanz wird in 1 ml einer Mischung aus 40 ml Acetonitril, 40 ml Methanol und 20 ml Wasser gelöst und als solches auf eine HPLC-Säule injiziert (Tabelle 2).

30

Tabelle 2  
HPLC-Parameter

Stationäre Phase	Kromasil 100, C18, 5 µm, MWChromatographietechnik
Säule	L 250 mm x D 4 mm
Mobile Phase	A : Milli-Q-Wasser B : Acetonitril
Gradient	Isocratisch : 45A / 55B
Detektor	UV 220 nm
Temperatur	40 °C
Laufzeit	35 min
Fluß	1 ml/min

35

40

45

50

55

Die nach dieser Methode bestimmten Retentionszeiten werden auf die Retentionszeit der Verbindung Beispiel-Nr. 5 aus EP-A-705 831 bezogen und in Tabelle 3 aufgelistet.

Bei dieser Methode weisen kleinere relative Retentionszeiten höhere Polaritäten aus.

60

65

# DE 199 51 022 A 1

Tabelle 3

## Relative Retentionszeiten

Beispiel-Nr. in dieser Anmeldung	Relative Retentionszeit
1b	0.36
1c	0.44
1d	0.47
1e	0.59
2a	0.27
2b	0.31
2c	0.31
2d	0.34
2e	0.34
2f	0.34
2g	0.37
2h	0.41
Standard: Beispiel 5 (aus EP705831)	1.00

- Die Erfindung betrifft außerdem die Kombination von Carbolinderivaten der allgemeinen Formel (I) mit einem Glucosidase- und/oder Amylasehemmer zur Behandlung von familiärer Hyperlipidämien, der Fetsucht (Adipositas) und des Diabetes mellitus. Glucosidase- und/oder Amylasehemmer im Rahmen der Erfindung sind beispielsweise Acarbase, Adiposine, Voglibase, Miglyitol, Emiglytate, MDL-25637, Camiglybase (MDL-73945), Tendamistate, AI-3688, Trestatin, Pradimilin-Q und Salbostatin.
- Bevorzugt ist die Kombination von Acarbose, Miglyitol, Emiglytate oder Voglibase mit einer der oben aufgeführten erfundungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I).
- Die Erfindung betrifft weiterhin Verbindungen der Carbolinderivate der allgemeinen Formel (I) mit folgenden Wirkstofftypen: HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren, dieser Bezeichnung steht im Rahmen der Erfindung im allgemeinen für alle im Stand der Technik unter diesem Begriff aufgeführten Stoffklassen. Bevorzugt sind unter diesem Begriff Statine, wie sie beispielsweise in EP 247 633, US 5 006 530, EP 33 538, US 4346 227, EP 22 478 oder EP 114 027 beschrieben sind.
- Bevorzugt seien genannt Atorvastatin, Cerivastatin, Simvastatin, Pravastatin, Lovastatin und Fluvastatin.  
Besonders bevorzugt ist Cerivastatin.
- Statine können in Form ihrer Ester oder Lactone oder als Carbonsäure bzw. Salze der Carbonsäure vorliegen. Bei Cerivastatin wird besonders bevorzugt das Natriumsalz (Cerivastatin-Natrium) eingesetzt.
- Aktivatoren von PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor), und zwar insbesondere Aktivatoren von PPAR-alpha oder PPAR-gamma bzw. Verbindungen, die sowohl PPAR-alpha als auch PPAR-gamma aktivieren. Als Beispiele für PPAR-Aktivatoren seien hier die Fibrate genannt, welche Triglyceride senken. Besonders bevorzugte Beispiele für Fibrate sind Bezafibrat, Clofibrat, Etofyllinclofibrat, Fenofibrat, Gemfibrozil, Etofibrat und Ciprofibrat. Von diesen ganz besonders bevorzugt sind Gemfibrozil, Fenofibrat und Bezafibrat (Literatur siehe: Staels B. et al. Circulation 1998 Nov 10; 98 (19): 2088-93 und Atherosclerosis 1998 Apr; 137 Suppl: S 75-80).
- Nicotinsäure und Nicotinsäuredervate, bevorzugte Beispiele sind die Nicotinsäure selbst (auch bekannt als Niacin) sowie Acipimox und Niceritrol.
- Anionenaustauscher, die als Gallensäurebinder wirken und die Cholesterinabsorption hemmen. Bevorzugte Beispiele für solche Anionenaustauscher sind Colestyramin und Colestipol.
- Fettlösliche Vitamine, und zwar insbesondere die Vitamine A und E, die sowohl einzeln als auch in Kombination als Komponente B eingesetzt werden können. Vitamin A umfasst insbesondere folgende Substanzen: Retinol, 3, Dehydroretinol, Retinal und Retinsäure; anstelle von Vitamin A kann auch Provitamin A (beta-Carotin) eingesetzt werden. Unter Vitamin E wird die Substanzgruppe der Tocopherole, wie z. B. alpha-, beta- und gamma-Tocopherol, verstanden.
- CETP-Inhibitoren wie sie z. B. in EP 818 448 oder in WO 99/1474 genannt sind.
- Antidiabetika, die nicht Glucosidase oder Amylase hemmen, und zwar insbesondere Sulfonylharnstoffe, wie Glibenclamid oder Glimeperid, Insulin, Insulin-sensitizing agents, wie Thiazolidinedione, Troglitazone, Rosiglitazone, Pioglitazone, Metformin, Repaglinid und Proglycosyn.
- Antioxidantien, insbesondere Probucol.
- Mittel gegen Fetsucht, vorzugsweise Sibutramin oder Orlistat.
- Cytostatika, und zwar insbesondere Alkylanzien, bevorzugt Stickstofflost-Derivate wie z. B. Cyclophosphamide, Trofosfamide, Ifosfamide, Melphalan, Chlorambucil, Dacarbazine; Nitroharnstoffverbindungen wie z. B. Carmustin, Lomustin, Nimustin; Aziridine; Cisplatin; Busulfan; Antimetabolite, bevorzugt Folsäureantagonisten wie z. B. Methotrexat und Aminopterin, Pyrimidinanaloge wie z. B. Fluorouracil, Purinanaloga wie z. B. Azathioprin, Mercaptopurin; Mitosehemmstoffe wie z. B. Colchicin, Podophyllotoxin, Vinblastin, Vincristin, Vindesin und Dytostatische Antibiotika wie

# DE 199 51 022 A 1

Actinomycine, Anthracycline, Aclarubicine, Daunorubicin, Doxorubicin, Epirubicin, Bleomycin, sowie Hormone und Hormonantagonisten, die das Wachstum von Krebszellen hemmen.

Calciumantagonisten und zwar insbesondere Nifedipin, Nitrendipin, Nimodipine, Nisoldipine, Nicardipine, Barnidipine, Felodipine, Lacidipine, Nilvadipine, Flunarizine, Isradipine, Amlodipine, Lercanidipine, Verapamil, Gallopamil, Diltiazem, Fendilin, Clentiazem.

Blutdrucksenkende Mittel und zwar insbesondere ACE-Hemmer, (ACE = angiotensin-converting-enzyme), wie z. B. Captopril, Enalapril, Quinapril, Ramipril, Lisinopril, Cilazapril, Imidapril, Trandolapril, Perindopril, Idrapril, Benazepril; Beta-Blocker wie z. B. Propranolol, Alprenolol, Oxprenolol, Penbutolol, Bupranolol, Metopropolol, Betaxolol, Atenolol, Acebutolol, Metipranolol, Nadolol, Pindolol, Mepindolol, Carteolol, Carazolol, Timolol, Satalol, Toliprolol.

Thyroidhormone bzw. Thyroidmimetika wie z. B. Dextrothyroxin.

Durchblutungsfördernde Mittel wie z. B. Pentoxifyllin, Naftidrofuryl und Buflomedil. Thrombozytenaggregationshemmer wie z. B. Ticlopidine, Cilostazol, Xemilofiban, PGI2-Analoga, Aspirin, Xemilofiban, Tirofiban, Roxifiban, Sibrafiban, Lamifiban, Xemilofiban, Fradafiban, Sibrafiban, Fradafiban, Lefradafiban.

Antikoagulantien wie z. B. Heparin.

Angiotensin-II-Rezeptorantagonisten wie z. B. Saralasin, Valsartan und Losartan.

Die neuen Wirkstoffe können in bekannter Weise in die üblichen Formulierungen überführt werden, wie Tabletten, Dragees, Pillen, Granulat, Aerosole, Sirupe, Emulsionen, Suspensionen und Lösungen, unter Verwendung inerter, nicht-toxischer, pharmazeutisch geeigneter Trägerstoffe oder Lösemittel. Hierbei soll die therapeutisch wirksame Verbindung jeweils in einer Konzentration von etwa 0,5 bis 90-Gew.-% der Gesamtmasse vorhanden sein, d. h. in Mengen, die ausreichend sind, um den angegebenen Dosierungsspielraum zu erreichen.

Die Formulierungen werden beispielsweise hergestellt durch Verstreichen der Wirkstoffe mit Lösemitteln und/oder Trägerstoffen, gegebenenfalls unter Verwendung von Emulgiermitteln und/oder Dispergiermitteln, wobei z. B. im Fall der Benutzung von Wasser als Verdünnungsmittel gegebenenfalls organische Lösemittel als Hilfslösemittel verwendet werden können.

Die Applikation erfolgt in üblicher Weise, vorzugsweise oral oder parenteral, insbesondere perlingual oder intravenös.

Für den Fall der parenteralen Anwendung können Lösungen des Wirkstoffs unter Verwendung geeigneter flüssiger Trägermaterialien eingesetzt werden.

Im allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei intravenöser Applikation Mengen von etwa 0,001 bis 1 mg/kg, vorzugsweise etwa 0,01 bis 0,5 mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen, und bei oraler Applikation beträgt die Dosierung etwa 0,01 bis 20 mg/kg, vorzugsweise 0,1 bis 10 mg/kg Körpergewicht.

Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit vom Körpergewicht bzw. der Art des Applikationsweges, vom individuellen Verhalten gegenüber dem Medikament, der Art von dessen Formulierung und dem Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Verabreichung erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

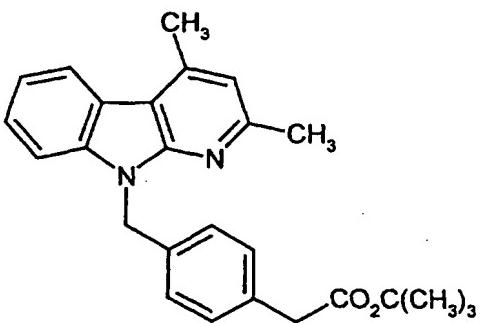
## Ausgangsverbindungen

### Beispiel I

40

4-[(2,4-Dimethyl-9H-pyrido[2,3-b]indol-9-yl)methyl]phenylessigsäure-tert.-butylester

45



50

55

Einer Lösung von 5.00 g (14.5 mmol) 4-[(2,4-Dimethyl-9H-pyrido[2,3-b]indol-9-yl)methyl]phenyl-essigsäure (EP 705 831, Beispiel-Nr. CXLI) in 20 ml Dichlormethan wurde eine Lösung von 4.30 g (58.0 mmol) tert.-Butanol, 0.44 g (3.6 mmol) 4-Dimethylamino-pyridin und 3.29 g (16.0 mmol) N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid in 50 ml Dichlormethan zugesetzt. Nach einer Rührzeit von 20 Stunden wurde der erhaltene Niederschlag abfiltriert und mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand an Kieselgel 60 (Merck) chromatographisch aufgereinigt (Petrolether : Essigsäureethylester = 10 : 1); Ausbeute: 2.04 g.

60

DC:  $R_f$  = 0.46 (Petrolether : Essigsäureethylester = 5 : 1)

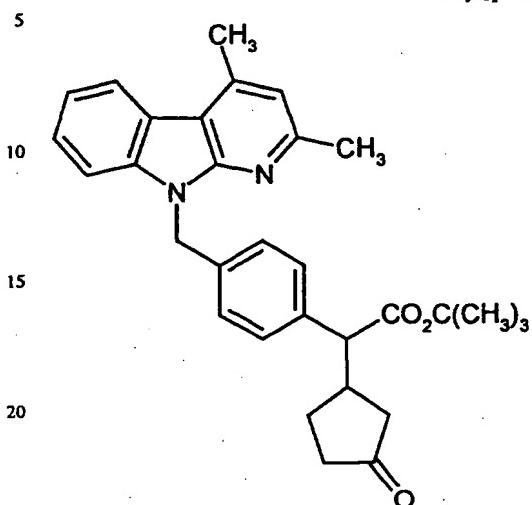
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS):  $\delta$  = 1.41 (S, 9H), 2.66 (S, 3H), 2.83 (S, 3H), 3.47 (S, 2H), 5.69 (S, 2H), 6.88 (S, 1H), 7.11–7.42 (M, 7H), 8.09 (D, 1H) ppm.

65

DE 199 51 022 A 1

Beispiel II

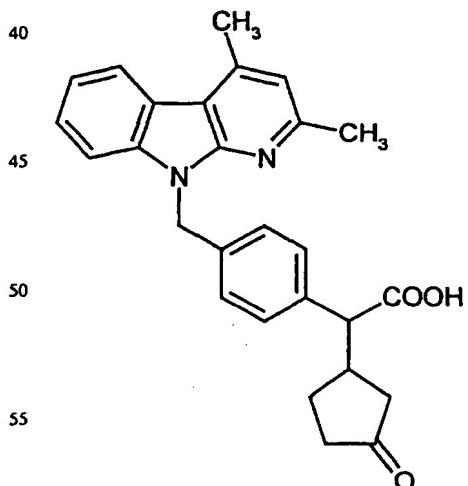
Gemisch aller racemischen Diastereomere von  $\alpha$ -(3-Oxo-cyclopentyl)-4-[(2,4-dimethyl-9H-pyrido[2,3-b]indol-9-yl)methyl]phenylessigsäure-tert.-butylester



25 1.830 g (4.59 mmol) der Verbindung gemäß Beispiel I wurde in 40 ml Tetrahydrofuran auf -78°C gekühlt und mit einer 2M Lösung von Lithiumdiisopropylamid in Tetrahydrofuran/Heptan/Ethylbenzol bei dieser Temperatur behandelt. Nach 20 Minuten wurden 0.377 g (4.59 mmol) Cyclopent-2-enon in 1 ml Tetrahydrofuran zugegeben. Nach 1 h wurde die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur aufgewärmt und in eine Mischung aus Diethylether, Essigsäureethylester und wässrigen Puffer (pH = 2) eingerührt. Die organische Phase wurde nach Trocknung mit Magnesiumsulfat eingedampft und der Rückstand an Kieselgel 60 (Merck) chromatographisch aufgereinigt (Petrolether : Essigsäureethylester = 5 : 1 bis 2 : 1); Ausbeute: 1.54 g.  
 DC: R<sub>f</sub> = 0.51 (Petrolether : Essigsäureethylester = 2 : 1)  
 MS (FAB): m/z = 505 (6%, [M+Na]<sup>+</sup>), 483 (59%, [M+H]<sup>+</sup>), 482 (32%, M<sup>+</sup>).

35 Beispiel III

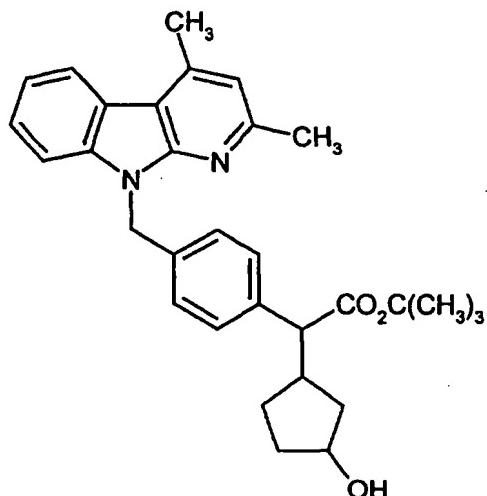
Gemisch aller racemischen Diastereomere von  $\alpha$ -(3-Oxo-cyclopentyl)-4-[(2,4-dimethyl-9H-pyrido[2,3-b]indol-9-yl)methyl]phenylessigsäure



60 0.566 g (1.17 mmol) der Verbindung gemäß Beispiel II wurde in 6 ml Dioxan gelöst, mit 1 ml konzentrierter Salzsäure versetzt und 2 Stunden bei 70°C umgesetzt. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit Wasser verdünnt. Der dabei angefallene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Hochvakuum über Phosphorpentoxid getrocknet; Ausbeute: 0.460 g.  
 DC: R<sub>f</sub> = 0.11 (Dichlormethan : Ethanol = 20 : 1)  
 MS (FAB): m/z = 427 (100%, [M+H]<sup>+</sup>), 426 (39%, M<sup>+</sup>).

## Beispiel IV

Gemisch aller racemischen Diastereomere von  $\alpha$ -(3-Hydroxy-cyclopentyl)-4-[(2,4-dimethyl-9H-pyrido[2,3-b]indol-9-yl)methyl]phenylessigsäure-tert.-butylester



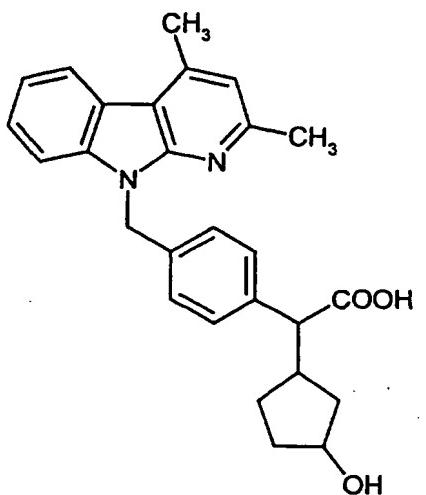
0.890 g (1.84 mmol) Verbindung gemäß Beispiel II wurden 24 Stunden mit 0.279 g (7.38 mmol) Natriumborhydrid in 50 ml Tetrahydrofuran bei Raumtemperatur umgesetzt. Die Reaktionsmischung wurde in eine Mischung von Diethylether und wässriger Ammoniumchloridlösung eingerührt. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft; 0.898 g.

DC:  $R_f = 0.22$  (Petrolether : Essigsäureethylester = 2 : 1)

MS (DCI, NH<sub>3</sub>): m/z = 485 (100%, [M+H]<sup>+</sup>).

## Beispiel V

Gemisch aller racemischen Diastereomere von  $\alpha$ -(3-Hydroxy-cyclopentyl)-4-[(2,4-dimethyl-9H-pyrido[2,3-b]indol-9-yl)methyl]phenylessigsäure



0.764 g (1.58 mmol) der Verbindung gemäß Beispiel IV wurde in 6 ml Dioxan gelöst und 2 Stunden mit 1.3 ml konzentrierter Salzsäure bei 70°C umgesetzt. Darauf wurden Diethylether und Wasser in die Reaktionsmischung eingerührt. Die organische Phase wurde bei pH = 3 mit Diethylether nachextrahiert und dann mit wässriger Natriumhydroxidlösung geschüttelt. Die alkalische wässrige Phase (pH = 13–14) wurde mit Salzsäure angesäuert und mit Diethylether bei pH = 3 extrahiert. Der etherische Extrakt wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft; 0.550 g.

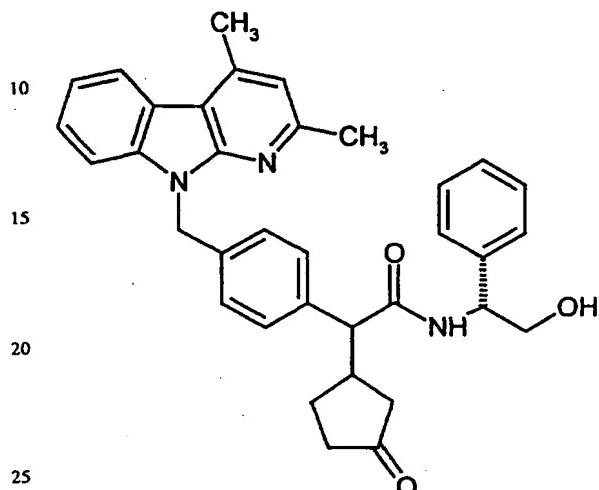
DC: W = 0.48 (Dichlormethan : Ethanol = 10 : 1)

MS (FAB): m/z = 429 (38%, [M+H]<sup>+</sup>).

## Herstellungsbeispiele

## Beispiel 1

- 5 Alle Diastereomere von  $\alpha$ -(3-Oxo-cyclopentyl)-4-[(2,4-dimethyl-9H-pyrido[2,3-b]indol-9-yl) methyl]-N-[R]-{(2-hydroxy-1-phenylethyl)-phenylessigsäureamid}



0.460 g (1.08 mmol) Verbindung 3, 0.148 g (1.08 mmol) [R]-Phenylglycinol, 0.160 g (1.18 mmol) 1-Hydroxy-1H-benzotriazol, 0.238 g (1.24 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethyl-carbodiimid Hydrochlorid und 0.30 ml (2.16 mmol) Triethylamin wurden in 20 ml Dichlormethan gelöst und 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die erhaltenen Mischung wurde in ein Gemisch von Dichlormethan und wässrigem Puffer (pH = 2) eingerührt, die organische Phase nacheinander mit wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung und wässrigem Puffer vom pH = 7 gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Eindampfen fiel 0.530 g Produktgemisch (Beispiel 1a) an.

DC:  $R_f$  = 0.30 und 0.22 (Dichlormethan : Ethanol = 20 : 1)

Zur chromatographischen Trennung des Diastereomerengemisches (Beispiel 1a) wurden 0.4 g des Gemisches in 20 ml Methanol und 2 ml Trichlormethan gelöst und portionsweise in ein präparatives HPLC-System injiziert (Stationäre Phase: Kromasil 100, C18, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  20 mm MWChromatographietechnik/Säulenlänge: 250 mm/Mobile Phase: A = Milli-Q-Wasser, B = 90 Vol.% Methanol + 10 Vol.% Trichlormethan, Gradient: isocratisch: 30 A, 70 B/Detektion bei 250 nm/Fluss: 20 ml/min). Die Reinheit der aufgefangenen Fraktionen wurde über eine analytische HPLC-Methode bestimmt (Stationäre Phase: Kromasil 100, C18, 5  $\mu$ m, 125  $\times$  3.0 mm MWChromatographietechnik/Säulenlänge: 125 mm/Mobile Phase: A = Milli-Q-Wasser, B = Acetonitril, C = Methanol, Gradient: isocratisch: 35 A, 32.5 B, 32.5 C/Detektion bei 250 nm/Fluss: 0.7 ml/min), die einander entsprechenden Fraktionen zusammengegeben und eingedampft: Fraktion A = Diastereomer 1 (47.6 mg), Fraktion B = Diastereomer 2 + 3 (105 mg), Fraktion C = Diastereomer 4 (60.7 mg).

Fraktion B wurde in 4 ml Ethanol und 1 ml Trichlormethan gelöst, und chromatographisch über eine andere HPLC-Methode getrennt (Stationäre Phase: Kromasil 100, NH<sub>2</sub>, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  20 mm MWChromatographietechnik/Säulenlänge: 250 mm/Mobile Phase: A = 25 Vol.% Ethanol + 75 Vol.% Trichlormethan, B = n-Heptan, Gradient: isocratisch: 30 A, 70 B/Detektion bei 250 nm/Fluss: 20 ml/min). Die Reinheit der aufgefangenen Fraktionen wurde über eine analytische HPLC-Methode bestimmt (Stationäre Phase: Kromasil 100, C18, 5  $\mu$ m, 125  $\times$  3.0 mm MWChromatographietechnik/Säulenlänge: 125 mm/Mobile Phase: A: Milli-Q-Wasser, B: Acetonitril, C: Methanol, Gradient: isocratisch: 35 A, 32.5 B, 32.5 C/Detektion bei 250 nm/Fluss: 0.7 ml/min), die einander entsprechenden Fraktionen zusammengegeben und eingedampft: Fraktion D = Diastereomer 2 (28 mg), Fraktion E = Diastereomer 3 (9 mg).

Fraktion A = Diastereomer 1 = Verbindung 1b:

MS (ESI-POS): m/z = 568 (6%, [M+Na]<sup>+</sup>), 546 (100%, [M+H]<sup>+</sup>).

Fraktion D = Diastereomer 2 = Beispiel 1c

MS (ESI-POS): m/z = 568 (27%, [M+Na]<sup>+</sup>), 546 (100%, [M+H]<sup>+</sup>).

Fraktion E = Diastereomer 3 = Beispiel 1d

MS (ESI-POS): m/z = 568 (72%, [M+Na]<sup>+</sup>), 546 (100%, [I+H]<sup>+</sup>).

Fraktion C = Diastereomer 4 = Beispiel 1e

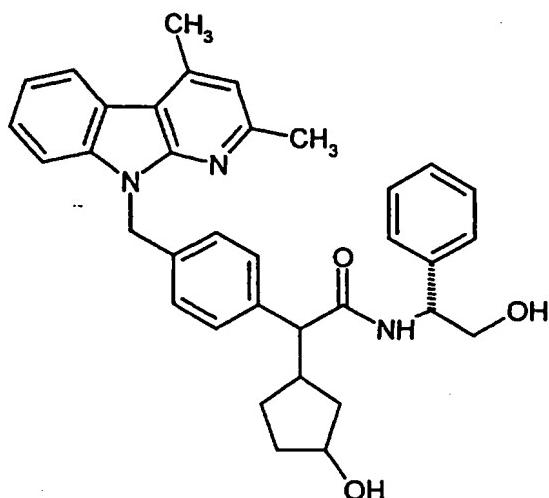
MS (ESI-POS): m/z = 1113 (11%, [2M+Na]<sup>+</sup>), 584 (13%, [M+K]<sup>+</sup>), 568 (11%, [M+Na]<sup>+</sup>), 546 (100%, [M+H]<sup>+</sup>).

60

65

## Beispiel 2

Gemisch aller Diastereomere von  $\alpha$ -(3-Hydroxy-cyclopentyl)-4-[(2,4-dimethyl-9H-pyrido[2,3-b]indol-9-yl)methyl]-N-[R]-{(2-hydroxy-1-phenylethyl)-phenyl}essigsäureamid



0.508 g (1.18 mmol) der Verbindung gemäß Beispiel V, 0.163 g (1.18 mmol) [R]-Phenylglycinol, 0.176 g (1.30 mmol) 1-Hydroxy-1H-benzotriazol, 0.261 g (1.36 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethyl-carbodiimid Hydrochlorid und 0.33 ml (2.72 mmol) Triethylamin wurden in 20 ml Dichlormethan gelöst und 24 Stunden bei Raumtemperatur umgesetzt. Die Reaktionsmischung wurde in ein Gemisch aus Dichlormethan und wässrigem Puffer (pH = 2) eingegliedert. Die organische Phase wurde nacheinander mit wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung und wässrigem Puffer von pH = 7 extrahiert, mit Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft; 0.572 g.

DC:  $R_f$  = 0.48 (Dichlormethan : Ethanol = 10 : 1)

Zur Trennung der Substanzen durch präparative HPLC wurden 0.6 g des Gemisches in 40 ml Acetonitril, 40 ml Methanol und 20 ml Wasser gelöst und portionsweise in ein HPLC-System injiziert (Stationäre Phase: Kromasil 100, C 18, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  20 mm MWChromatographietechnik/Säulenlänge: 250 mm/Mobile Phase: A = Milli-Q-Wasser, B = Acetonitril, C = Methanol, Gradient: isocratisch: 30 A, 35 B, 35 C/Detektion bei 230 nm/Temperatur: 40°C/Fluss: 20 ml/min). Die Reinheit der aufgefangenen Fraktionen wurde über analytische HPLC-Methoden bestimmt (Methode A: Stationäre Phase: Kromasil 100, C 18, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  4 mm MWChromatographietechnik/Mobile Phase: A = Milli-Q-Wasser, B = Acetonitril, C = Methanol, Gradient: isocratisch: 30 A, 35 B, 35 C/Detektion bei 220 nm/Temperatur: 40°C/Fluss: 1 ml/min. Methode B: Stationäre Phase: Kromasil 100, C 18, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  4 mm MWChromatographietechnik/Mobile Phase: A = Milli-Q-Wasser, B = Acetonitril, Gradient: isocratisch: 45 A, 55 B/Detektion bei 220 nm/Temperatur: 40°C/Fluss: 1 ml/min), die einander entsprechenden Fraktionen zusammengegeben und eingedampft: Fraktion A = Diastereomer 1 (44 mg), Fraktion B = Diastereomer 2 (16 mg), Fraktion C = Diastereomer 3 + 4, Fraktion D = Diastereomer 5 + 6, Fraktion E = Diastereomer 7 (77 mg), Fraktion F = Diastereomer 8 (47 mg).

Fraktion C wurde in 7.5 ml n-Heptan und 7.5 ml Ethanol gelöst und chromatographisch über HPLC aufgetrennt (Stationäre Phase: Kromasil 100, NH<sub>2</sub>, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  20 mm MWChromatographietechnik/Mobile Phase: A = n-Heptan, B = Ethanol, Gradient: isocratisch: 85 A, 15 B/Detektion bei 230 nm/Temperatur: 40°C/Fluss: 15 ml/min). Die Reinheit der aufgefangenen Fraktionen wurde über analytische HPLC-Methoden bestimmt (Methoden A und B, wie oben angegeben), die einander entsprechenden Fraktionen zusammengegeben und eingedampft: Fraktion G = Diastereomer 3 (44 mg), Fraktion H = Diastereomer 4 (63 mg).

Fraktion D wurde in 10 ml Acetonitril und 10 ml Methanol gelöst und chromatographisch über HPLC aufgetrennt (Stationäre Phase: Kromasil 100, C 18, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  20 mm MWChromatographietechnik/Mobile Phase: A = Milli-Q-Wasser, B = Acetonitril, Gradient: isocratisch: 50 A, 50 B/Detektion bei 230 nm/Temperatur: 40°C/Fluss: 20 ml/min). Die Reinheit der aufgefangenen Fraktionen wurde über analytische HPLC-Methoden bestimmt (Methoden A und B, wie oben angegeben), die einander entsprechenden Fraktionen zusammengegeben und eingedampft: Fraktion I = Diastereomer 5 (18 mg), Fraktion J = Diastereomer 6 (37 mg).

Die Diastereomere 3 und 4, sowie die Diastereomere 5 und 6 haben unter den Bedingungen der analytischen HPLC-Methode A dieselben Elutionszeiten. Die Diastereomere 2 und 3 haben unter den Bedingungen der analytischen HPLC-Methode B dieselben Elutionszeiten.

Fraktion A = Diastereomer 1 = Beispiel 2a

MS (ESI-POS): m/z = 548 (100%, [M+H]<sup>+</sup>).

Fraktion B = Diastereomer 2 = Beispiel 2b

MS (ESI-POS): m/z = 548 (100%, [M+H]<sup>+</sup>), 530 (8%, M<sup>+</sup>-OH).

Fraktion G = Diastereomer 3 = Beispiel 2c

MS (ESI-POS): m/z = 548 (100%, [M+H]<sup>+</sup>).

Fraktion H = Diastereomer 4 = Beispiel 2d

MS (ESI-POS): m/z = 548 (100%, [M+H]<sup>+</sup>).

Fraktion I = Diastereomer 5 = Beispiel 2e

MS (ESI-POS): m/z = 548 (100%, [M+H]<sup>+</sup>), 530 (4%, M<sup>+</sup>-OH).

Fraktion J = Diastereomer 6 = Beispiel 2f

MS (ESI-POS): m/z = 548 (100%, [M+H]<sup>+</sup>).

Fraktion E = Diastereomer 7 = Beispiel 2g

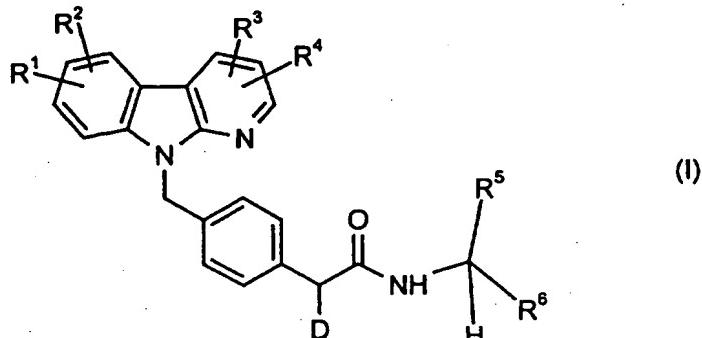
MS (ESI-POS): m/z = 548 (100%, [M+H]<sup>+</sup>), 530 (3%, M<sup>+</sup>-OH).

5 Fraktion F = Diastereomer 8 = Beispiel 2h

MS (ESI-POS): m/z = 548 (100%, [M+H]<sup>+</sup>).

Patentansprüche

10 1. Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



25 worin

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff, Alkyl mit bis zu 2 Kohlenstoffatomen, Hydroxymethyl, Hydroxyl, Carboxyl oder Formyl stehen,

D für Alkyl mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen steht, die durch ein oder zwei Hydroxygruppen oder eine Oxogruppe substituiert sind,

R<sup>5</sup> für Phenyl steht, das bis zu 2-fach gleich oder verschieden durch Nitro, Halogen, Hydroxy, Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen, wobei Alkyl gegebenenfalls durch Hydroxyl substituiert sein kann, Alkoxy mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen und/oder Alkoxy carbonyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen substituiert sein kann und

R<sup>6</sup> für Wasserstoff, Carboxyl, Alkoxy carbonyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen oder für Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen steht, wobei das Alkyl gegebenenfalls durch Hydroxyl substituiert sein kann und deren Salze.

2. Verbindungen gemäß Anspruch 1, wobei

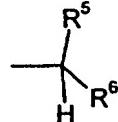
R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> gleich oder verschieden sind und für Methyl, Hydroxyl, Hydroxymethyl, Formyl oder Carboxyl stehen,

D für Cycloalkyl mit 5 bis 7 Kohlenstoffatomen steht, das durch ein oder zwei Hydroxygruppen oder eine Oxogruppe substituiert ist

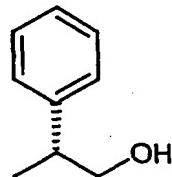
R<sup>5</sup> für Phenyl steht, das gegebenenfalls einfach durch Nitro, Halogen, Hydroxy, Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen, wobei Alkyl gegebenenfalls durch Hydroxy substituiert sein kann, Alkoxy mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen oder Alkoxy carbonyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen substituiert sein können

R<sup>6</sup> für Wasserstoff oder für Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen steht, wobei das Alkyl gegebenenfalls durch Hydroxyl substituiert sein kann und deren Salze.

3. Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 und 2, in denen die Gruppierung

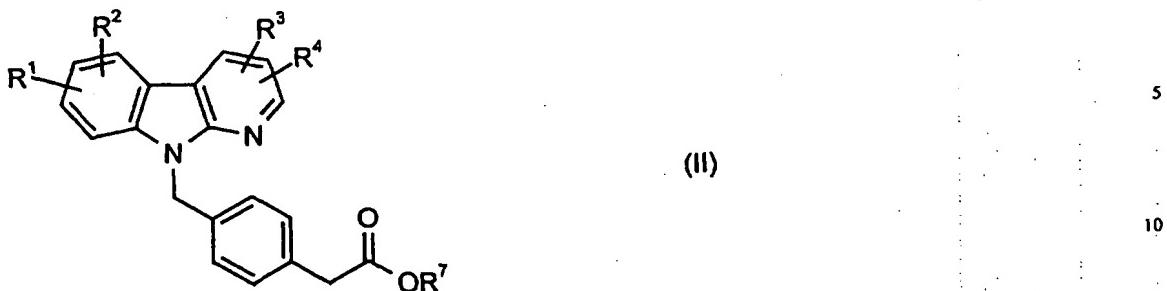


55 für einen (S)-2'-Hydroxy-1'-phenylethylrest der Formel



60 steht.

65 4. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



worin  
 $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutung haben und  
 $R^7$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, bevorzugt tert.-Butyl, steht,  
zur Einführung des Substituenten D in Gegenwart einer Base mit Elektrophilen E, wobei E ein elektrophiles Syn-  
these-Äquivalent für D bezeichnet, umsetzt, je nach der Natur von E im Fall der Carbonylverbindungen gegebenen-  
falls die Hydroxygruppe oxidiert bzw. im Fall der Hydroxylverbindungen die Carbonylgruppe reduziert,  
die erhaltenen Ester nach üblichen Methoden zu den Carbonsäuren hydrolysiert und die Carbonsäuren mit Verbin-  
dungen der allgemeinen Formel (III)

15

20



worin  
 $R^5$  die oben angegebene Bedeutung hat und  
 $R^8$  die oben für  $R^6$  angegebene Bedeutung, mit Ausnahme von Carboxyl, hat,  
in einem inerten Lösungsmittel und in Anwesenheit von Basen und/oder Hilfsstoffen amidiert und gegebenenfalls  
funktionelle Gruppen durch Hydrolyse, Veresterung oder Reduktion variiert.  
5. Verwendung von Verbindungen gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln.  
6. Arzneimittel enthaltend mindestens eine Verbindung gemäß Anspruch 1.

30

35

40

45

50

55

60

65

**- Leerseite -**